検体の由来	検体数	陽性検体		
		鏡検	Löwenstein-Jensen培地	本品
喀痰	3620	110	141	184
気管支肺胞洗浄液	383	6	8	8
気管支洗浄液	31	2	3	5
尿	673	10	14	17
胸水	167	0	7	15
脳脊髄液	102	0	0	0
腹水	36	0	0	0
関節の滑液	8	0	0	0
血液	11	0	0	0
生検	87	4	11	15
穿刺液	40	0	0	0
滲出液	31	3	3	3
骨髄液	16	0	0	0
胃液	3	0	0	0
合計	5208	135	187	247

〔使用上または取り扱い上の注意事項〕

1．一般的な注意事項

1)この添付文書をよく読み、記載されている操作法に従って使用する。

2)使用期限を過ぎた分離培養ボトルは使用しない。

3)使用前に異物混入や破損等の異常が認められた分離培養ボトルは使用しない。

4)医療機器の使用に際しては、必ず取扱説明書を読み、操作法を遵守する。

5)検査結果に基づく臨床診断は、臨床症状や他の検査結果とあわせて担当医師が総合的に判断する。

2．危険防止上の注意事項

1)微生物の取扱いは常に感染の危険性があるので、取扱いにあたっては熟練した人の指導のもとに、バイオハザード対策を実施した上で行う。

2)検体に接触した器具、培地および分離培養ボトルなどは、すべて感染の危険性があるものとして取り扱う。

3)検体接種時および培地のサンプリングに際しては、針刺し事故等に十分注意する。

3．廃棄上の注意事項

使用後の培地、器具などは、オートクレーブ等で滅菌した後、廃棄物に関する法令、条例等に従って医療廃棄物または産業廃棄物等に区別して処理する。

〔貯蔵方法・有効期間〕

(1) 貯蔵方法

遮光して2～8℃に保存する。

注：分離培養ボトルは使用前に室温(15～30℃)に戻す。

(2) 有効期間

12ヶ月(使用期限は分離培養ボトル、MASキットの外箱ラベルおよび容器のラベルに直接記載されている。)

〔包装単位〕

MP抗酸菌培養ボトル

分離培養ボトル……10mL×100本　品番 259797

MASキット　……20テスト用×５本　品番 259760

抗生物質サプリメント……10mL用×５本

再溶解液……15mL×５本

〔主要文献〕

1)Kochi, A：The global tuberculuosis situation and the new control strategy of the World Health Organization. Tubercle 72：1-6, 1991.

2)Nolte FS, Metchock B：Mycobacterium, in Murrary PR, Baron EJ, Pfaller MA, et al(eds)：Manual of Clinical Microbiology, ed 6. Washington, DC, American Society for Microbiology, 1995, pp 400-437.

3)Eisenstadt J, Hall GS, Gibson SM, et al：Mycobacterium tuberculosis and other nontuberculosis mycobacteria, in Mahon CR, Manuselis G Jr(eds)：Textbook of Diagnostic Microbiology. Philadelphia, PA, Saunders, 1995, pp635-676.

4)Roberts GD, Koneman EW, Kim YK：Mycobacterium in Balows A, Hausler WJ Jr, Herrmann KL, et al(eds)：Manual of Clinical Microbiology, ed 5. Washington, DC, American Society for Microbiology, 1991, pp 304-339.

5)Essential components of a tuberculosis program：recommendations of the Advisory Council for the Elimination of Tuberculosis. MMWR 1995；44(No.RR-11)：13.

6)Tenover FC, Crawford JT, Huebner RE, et al：The resurgence of tuberculosis：is your laboratory ready? J Clin Micro 31(4)：767-770, 1993.

7)Thorpe TC, Wilson ML, Turner JE, et al：BacT/Alert：an automated colorimetric microbial detection system. J Clin Micro 1990；28(7), 1608-1612.

8)Richmond JY, McKinney RW(eds)：Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. HHS Publication NO. CDC 93-8395. US Dept of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health, ed 4, 1999, pp 104-106.

9)Master, RN(ed)：Mycobacteriology, in Isenburg HD(ed)：Clinical Microbiology Procedures Handbook, vol 1. Washington, DC, American Society for Microbiology, 1992, sect3.

10)斉藤　宏, 山根誠久(1999)：Semi-Alkaline protease処理を併用したN-acetyl-L-cysteine-NaOH(NALC-NaOH)喀痰前処理法での全自動抗酸菌培養システム, MB/BacTの評価. JAR-MAM, 10：103-110

11)Fernando Alcaide, Miguel Angel Benitez, et al：Evaluation of the BACTEC MGIT960 and the MB/BacT Systems for Recovery of Mycobacteria from Clinical Specimens and for Species Identification by DNA AccuProbe. Journal of Clinical Microbiology, Jan. 2000, p.398-401

12)J. J. Palacios, J. Ferro, N. Ruiz, Palma, J. M. Garcia, et al：Fully Automated Liquid Culture System Compared with Löwenstin-Jensen Solide Medium for Rapid Recovery of Mycobacteria from Clinical Samples. Eur J Clin Microbiol Infect Dis(1999)18：265-273

【問い合わせ先】

シスメックス株式会社　CSセンター

〒651-2241　神戸市西区室谷1丁目3番地の2

TEL.0120-265-034

シスメックス・ビオメリュー株式会社

〒141-0032　東京都品川区大崎一丁目2番2号

大崎セントラルタワー8階

TEL.03-6834-2666(代表)

【製造販売業者の氏名または名称及び住所】

シスメックス・ビオメリュー株式会社

〒141-0032　東京都品川区大崎一丁目2番2号

大崎セントラルタワー8階

製造販売元　シスメックス・ビオメリュー株式会社

〒141-0032　東京都品川区大崎一丁目2番2号

大崎セントラルタワー8階

BIOMÉRIEUX

この添付文書をよく読んでから使用してください。

体外診断用医薬品

※※2012年８月改訂(第３版)

※2011年９月改訂(第２版)

承認番号　21300AMY00370000

品番　259797

バクテアラート MB 120／240 抗酸菌検査システム
バクテアラート 3D 微生物培養検査システム
バクテアラート 3D コンビネーション
バクテアラート 3D 60

共用

培養同定・抗酸菌キット

MP抗酸菌培養ボトル

【全般的な注意】

- 本品は、体外診断用であり診断以外の目的に使用しないで下さい。
- 診断は他の関連する検査結果や臨床症状等に基づいて総合的に判断してください。
- 添付文書以外の使用方法については保証致しません。
- 使用する機器の添付文書等をよく読んでから使用して下さい。

※※〔形状・構造等（キットの構成)〕

１．分離培養ボトル ……10mL×100本

二酸化炭素センサー……5mL/ボトル

（キシレノールブルーを0.085%含有する。）

培地組成：Middlebrook 7H9 ブロス、カゼイン一パンクレアチン消化物、ウシ血清アルブミン、カタラーゼ、精製水

２．抗生物質サプリメント ……10mL用×5本

アムホテリシンＢ（1g中16.6mg含有)、硫酸ポリミキシンＢ、バンコマイシン、アズロシリン、ナリジクス酸、トリメトプリム　他

３．再溶解液 ……15mL×5本

オレイン酸、グリセリン、アマランス、精製水　他

注）構成試薬の２と３を合わせてキットとしてMASキットという。

〔使用目的〕

喀痰、気管支洗浄液、気管支肺胞洗浄液、胃液、尿、便、脳脊髄液、滑液、胸水、腹水、心膜穿刺液、組織滲出液の抗酸菌分離培養検査における菌の増殖の検出

〔測定原理〕

培養および測定には専用の医療機器を使用する。検体を接種した分離培養ボトル中で微生物の増殖により二酸化炭素が産生され、その濃度変化を分離培養ボトル底部の二酸化炭素センサーが検知して緑色から黄色へと変化する。この経時的変化を医療機器内の発光ダイオードと光検出器が10分ごとに反射散乱光として測定し、微生物の存在を自動判定する。陽性判定時のコロニー形成(CFU's)はおよそ10^6～10^7CFU/mLである。

※※〔特長〕

抗酸菌は偏性好気性、芽胞非形成、非運動性、抗酸性の細菌で、その発育は非常に遅く、発育時間は菌種によりさまざまである。結核菌のコロニー形成時間は一般的な抗酸菌用培地を使用して2～8週間またはそれ以上である。抗酸菌の培養には固形培地とともに液体培地の使用が推奨されるが、より速い発育・検出が要求されている。

MP抗酸菌培養ボトルは医療機器、バクテアラート 3D 微生物培養検査システム等を使用して、喀痰、気管支洗浄液、気管支肺胞洗浄液、胃液、尿、便、脳脊髄液、滑液、胸水、腹水、心膜穿刺液、組織滲出液の抗酸菌分離培養検査における菌の増殖の検出をする体外診断用医薬品であり、抗酸菌の簡易迅速培養を可能にした。MP抗酸菌培養ボトルは、結核菌やその他の抗酸菌の純培養あるいは感受性試験用の菌液調製に広く用いられているMiddlebrook 7H9 ブロスを基本組成とする抗酸菌用培地を用いている。また、抗生物質サプリメントは検体に由来する抗酸菌以外の細菌による汚染を防ぐための添加剤である。

P183

操作は適切な方法で前処理した検体を、抗生物質サプリメントを添加した分離培養ボトルに接種し、その分離培養ボトルを上記の医療機器にセットするだけである。分離培養ボトルは自動培養され、微生物の増殖により代謝産生される二酸化炭素のモニタリングにより、検体中の微生物の存在が自動判定される。本品と上記医療機器との組合せシステムの特徴としては以下の3点があげられる。

①結核菌および非結核性抗酸菌の簡易迅速培養検査が可能である。
②微生物の増殖に伴う代謝産物である二酸化炭素を分離培養ボトル底部の二酸化炭素センサーと医療機器の光検出器で客観的に測定できる。
③陽性検体の場合、判定結果がリアルタイムに報告されるため、迅速な報告が可能である。

〔操作上の注意〕

1．分離培養ボトル
1)培地は無色透明である。分離培養ボトルは使用前に必ず室温（15～30℃）に戻すこと。
2)分離培養ボトルの使用前には、必ず損傷や劣化の確認をし、損傷や液漏れのあるものは使用しない。また、ボトル底部の二酸化炭素センサーが黄色化しているものや液体培地に濁りのあるボトルは微生物汚染の可能性があるので使用しない。

2．検体採取
分離培養ボトルへの雑菌の混入は、誤って陽性と判定される可能性があるので、抗酸菌が存在する患者検体の正確な検査のためには、正しい検体の採取、輸送、取扱い、前処理がきわめて重要である。NCCLS指針や新結核菌検査指針(2000)の手順に従って、検体の採取および処理を注意して行う。

3．抗生物質サプリメント、再溶解液の添加および検体の接種
1)抗生物質サプリメント、再溶解液および検体は滅菌済みの注射器を使用して、無菌的に添加および接種する。また、検体は安全キャビネット内で滅菌済みの注射器を使用して無菌的に接種する。再溶解液には抗酸菌が発育するために最適な成分が含まれている。また、再溶解液にはピンク色の成分が含まれているので、抗生物質サプリメントおよび再溶解液が正しく添加されていることが確認できる。
2)検体の接種はCDCの生物安全指針レベル3の安全基準に従って、適切な防護服を着用して、安全キャビネット内で行う。
3)検体を接種した分離培養ボトルは通気する必要はない。

※4．培養
1)検体接種後の分離培養ボトルは感染性のあるものとして取り扱う。
2)検体を接種した分離培養ボトルを医療機器にセットするのが遅れた場合は、微生物増殖の兆候をボトル底部の二酸化炭素センサーを見て確認する。微生物が増殖した場合、センサーは緑色から黄色に変化する。
3)陽性と判定された分離培養ボトルは直ちに医療機器から取り出し、抗酸性染色およびサブカルチャーを行う。
4)分離培養ボトルを医療機器にセットした後、陰性の最終判定までは42日間の培養が必要である。
5)本品と共に固形培地も平行して用いられることが望ましい。

〔用法・用量（操作方法）〕

1．分離培養ボトル
分離培養ボトルは検体接種前に室温（15～30℃）に戻し、患者情報などを記入し使用する。

2．MASキット
検査に必要な数の抗生物質サプリメント（凍結乾燥品）に、再溶解液を無菌的に10mLずつ加えて溶解する。再溶解後、緩やかに転倒混和し、少なくとも30分以上室温（15～30℃）にて放置してから使用する。抗生物質サプリメント1本は分離培養ボトル20本分に十分な量である。再溶解した抗生物質サプリメントは2～8℃で保存した場合、7日間安定である。残った再溶解液は非汚染検体（髄液、胸水、腹水、心膜穿刺液など無菌的に採取され、雑菌が混在していないと考えられている検体）に使用するので、2～8℃で保存する。

3．検体採取と前処理

NCCLS指針及び新結核菌検査指針(2000)等の手順に従って、検体の採取を行う。検体の前処理は喀痰についてはN-アセチル-L-システイン・水酸化ナトリウム法（NALC-NaOH法）または喀痰融解酵素剤（Semi-Alkaline-Protease：SAP）とN-アセチル-L-システイン・水酸化ナトリウムを併用する方法（SAP-NALC-NaOH法）による雑菌汚染除去が推奨される。喀痰以外の汚染検体（気管支洗浄液、胃液など雑菌による汚染が考えられる検体）の前処理は新結核菌検査指針(2000)の喀痰以外の検体の前処理に記載の方法に従う。脳脊髄液、胸水、腹水、などのような一般細菌の混合汚染の可能性が低い検体はそのまま使用する。

＜SAP-NALC-NaOH法＞
①50mLの滅菌遠心管に喀痰検体と5倍量のSemi-Alkaline-Protease（SAP）950units/mLを分注する。
②よく撹拌した後、室温（15～30℃）で10分間静置する。
③滅菌リン酸緩衝液（0.067mol/L、pH6.8）で全体量50mLまで希釈混合し、3,000×gで20分間遠心する。
④遠心沈渣に1mLの滅菌リン酸緩衝液と3mLのSAPを添加し、よく撹拌した後、室温（15～30℃）で10分間静置する。
⑤滅菌リン酸緩衝液で全体量50mLまで希釈混合し、3,000×gで20分間遠心する。
⑥遠心沈渣に5mLの滅菌リン酸緩衝液を添加した後、再時調整したN-アセチル-L-システイン・水酸化ナトリウムを10mL添加する。
⑦よく撹拌した後、室温（15～30℃）で15分間静置する。
⑧滅菌リン酸緩衝液で全体量50mLまで希釈混合し、3,000×gで20分間遠心する。
⑨遠心沈渣を1～2mLの滅菌リン酸緩衝液にて再浮遊させ、その0.5mLを分離培養ボトルに接種する。

※4．検体の接種
1)分離培養ボトル上部をアルコール綿か同様のもので消毒する。再溶解した抗生物質サプリメントまたは再溶解液を分離培養ボトルに分注する前に、分離培養ボトル上部のゴム栓を乾かす。
2)検体接種前に、汚染検体に使用する分離培養ボトルには、再溶解した抗生物質サプリメント0.5mLを無菌的に添加する。また、非汚染検体に使用する分離培養ボトルには再溶解液0.5mLを無菌的に添加する。
注：次の操作からはCDCの生物安全指針レベル3の安全基準に従って、適切な防護服を着用して、安全キャビネット内で行う。
3)前処理した検体または非汚染検体0.5mLを滅菌済みツベルクリン用注射器などを用いて、適切な分離培養ボトルに無菌的に接種する。この際、分離培養ボトルを通気する必要はない。
4)抗酸菌に有効な消毒薬を含ませた綿か同様のもので分離培養ボトルの上部を拭き、乾いたら安全キャビネットから取り出す。
5)平行して、固形培地への接種も行われることが望ましい。

5．医療機器へのセット
検体を接種した分離培養ボトルを医療機器の取扱説明書に従って速やかにセットし、35～37℃で培養する。

6．培養・判定
分離培養ボトルを医療機器にセットした後、42日間以上または陽性と判定されるまで培養する。結果は自動判定される。

〔測定結果の判定法〕

医療機器にセットした分離培養ボトルの判定は、医療機器のもつ3つのアルゴリズム（陽性判定基準）に従い自動判定される。

1．陽性と判定された分離培養ボトルは、医療機器の取扱説明書に従って取り出した後、抗酸性染色とサブカルチャーによる確認試験を行う。抗酸性染色が陽性の場合は、検査室独自の抗酸菌同定法により菌種同定検査を行う。抗酸性染色が陰性の場合は、グラム染色を行う。抗酸性染色とグラム染色の両方が陰性の場合は、偽陽性の可能性があるので、分離培養ボトルを再設置して検査を続ける。

2．最大検査時間（42日間以上）が過ぎて陰性と判定された分離培養ボトルは、濁りがあるかどうか外観的に確認する。濁りが認められた場合は、廃棄前に抗酸性染色用とサブカルチャー用に内容物を取り出し、検査室独自の手順に従って試験を行う。

3．抗酸菌以外の菌がグラム染色で見つかった場合は、分離培養ボトルより内容物を取り出し、再度検体前処理手順に従って汚染菌の除去を行い、新しい分離培養ボトルに接種するか、再度検体を採取して検査を行う。

〔性能〕

①感度試験
下記の菌種を試験するとき、下記の日数で陽性になる。

②正確性試験
滅菌生理食塩水を試料として試験するとき陰性になる。

③同時再現性試験
下記の菌種を3回試験するとき、3回とも下記の日数で陽性になる。

菌　種	菌濃度(CFU/mL)	検出時間
Mycobactrium tuberculosis ATCC 25177	0.5mL×10^3CFU/mL	16日以内
Mycobactrium intracellulare ATCC 13950	0.5mL×10^3CFU/mL	16日以内

〔相関〕

1．臨床検体1,066のうち呼吸器系検体802(喀痰605、気管支肺胞洗浄液172、気管支洗浄液24、他気管支より得た検体1)、非呼吸器系検体264(胸水64、尿64、便30、組織36、胃液19、滑液14、脳脊髄液13、腹水12、心膜穿刺液12)、環境検体（水道水）2で合計1,068検体について、それぞれの抗酸菌分離率を検討した。汚染検体(雑菌による汚染が考えられる検体）についてはN-アセチル-L-システイン・水酸化ナトリウム法（NALC-NaOH法）で前処理を行った。髄液、胸水、腹水のような一般細菌の混合汚染の可能性が低い検体はそのまま遠心分離をした。前処理及び遠心後の最終沈澱物をpH6.8のリン酸緩衝液2mLに溶解し試料とした。総検体1,068のうち陽性検体が120（呼吸器系検体106、非呼吸器系検体13、環境検体1）で対照品とほぼ同等な検出率が認められた。

	検体数	本品	対照品	Löwenstein-Jensen培地
結核菌	96	85(88.5%)	84(87.5%)	70(72.9%)
塗抹陽性	51	50 (98%)	50 (98%)	48(94.1%)
塗抹陰性	45	35(77.8%)	34(75.6%)	22(48.9%)
非定型抗酸菌	24	15(62.5%)	15(62.5%)	14(58.3%)
塗抹陽性	5	5 (100%)	5 (100%)	5 (100%)
塗抹陰性	19	10(52.6%)	10(52.6%)	9(47.4%)
合計	120	100(83.3%)	99(82.5%)	84 (70%)

2．本品、対照品(液体培地)、他社の抗酸菌用固形培地及びLöwenstein-Jensen培地（小川培地に準ずる卵固形培地）の4種類の少なくとも１種類の培地より菌の増殖が検出された120検体についてDNAプローブ法を利用したAccuProbeによる菌種同定における一致率は対照品が96.8%に対して本品は100%一致した。

3．抗酸菌検出時間については下記のように対照品とほぼ同等で、固形培地よりは検出時間が早いという結果を得た。

	本品	対照品	Löwenstein-Jensen培地
陽性検体(120件)	15.9日(6～44日)	13.2日(4～40日)	22.2日(13～45日)
結核菌(96件)	15.9日(6～40日)	12.6日(4～37日)	22.1日(13～45日)
非定型抗酸菌(24件)	16.1日(6～44日)	16.6日(5～40日)	22.4日(15～44日)
M. kannsasii Genotype Ⅰ(14件)	14.1日(6～24日)	8.9日(5～16日)	19.2日(15～27日)

4．喀痰以外の検体についての検討
臨床検体5,208について喀痰と喀痰以外の検体について鏡検、Löwenstein-Jensen培地及び本品で検討した。下記の結果から本品は喀痰以外の検体においても抗酸菌を分離できることが確認された。